

**Dosage
des Médicaments Antisypilitiques
dans les Placentas et les Sangs du Cordon**

THÈSE

**Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier
le 23 Décembre 1946**

par

André TURPIN

**POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER
(mention : Pharmacie)**

JURY {

MM. JAULMES, Professeur, *Président*

CASTEL, Professeur.

CADERAS de KERLEAU, Professeur Agrégé à la
Faculté de Médecine

} *Assesseurs*

1947

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
MONTPELLIER

Dosage
des Médicaments Antisyphilitiques
dans les Placentas et les Sangs du Cordon

Dosage
des Médicaments Antisypilitiques
dans les Placentas et les Sangs du Cordon

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

le 23 Décembre 1946

par

André TURPIN

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

(mention : Pharmacie)

JURY {

MM. JAULMES, Professeur, *Président*

CASTEL, Professeur.

CADERAS de KERLEAU, Professeur Agrégé à la
Faculté de Médecine

} *Assesseurs*

1947

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
MONTPELLIER

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM.

E. CANALS (I. P. ☉)	Doyen.
P. JAULMES (I. P. ☉)	Assesseur.
G. TOURRETTE (I. P. ☉)	Secrétaire.
L. BONNET (I. P. ☉)	Secrétaire-adjoint.

DOYENS HONORAIRES

M. G. MASSOL (✱, I. P. ☉ ✱)	A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☉)
-----------------------------	---------------------------

PROFESSEURS HONORAIRES

MM.

M. MOUSSERON (I. P. ☉), professeur à la Faculté des Sciences à Montpellier.
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☉)

PROFESSEURS

MM.

C. HOLLANDE (✱, I. P. ☉)	Zoologie et microbiologie.
E. CANALS (I. P. ☉)	Physique.
P. JAULMES (I. P. ☉)	Analyse et toxicologie.
R. DOLIQUE (I. P. ☉)	Chimie minérale et pharmacie industrielle.
J. GIROUX	Pharm. galénique et pharmacodynamie.
R. GRANGER	Chimie organique pharmaceutique.
P. CASTEL (I. P. ☉)	Pharmacie chimique.
J. SUSPLUGAS (A. ☉)	Botanique et matière médicale.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM.

C. BESSIERE	<i>Sciences naturelles.</i>
P. MONNIER (A. ☉), professeur, Ch. des Fonctions, Sciences physico-chimiques.	

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.

E. CANALS (I. P. ☉)	Hydrologie.
P. JAULMES (I. P. ☉)	Toxicologie.
R. DOLIQUE (I. P. ☉)	Pharmacie industrielle.
J. GIROUX	Physiologie.
J. SUSPLUGAS (A. ☉)	Botanique.
P. MONNIER (A. ☉)	Chimie Biologique.
L. ASTRUC	Législation pharmaceutique.
C. BESSIERE	Zoologie et Cryptogamie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.

L. FARRÉ (I. P. ☉)	Chimie et Pharmacie.
R. MARIGNAN	Physique.
M. LALAURIE (chargé des fonctions)	Histoire naturelle.

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui sont présentées.



A MA GRAND'MÈRE

A MON GRAND'PÈRE

Ex-Pharmacien Biologiste de l'Hôpital Général de Bayonne.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

Ingénieur en Chef des Houillères du Bassin des Cévennes.

A MES FRÈRES : MICHEL, PIERRE et JEAN

A TOUS MES AMIS.

A MON MAITRE et PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR JAULMES,

Professeur de Chimie Analytique et de Toxicologie à la
Faculté de Pharmacie de Montpellier.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CASTEL,

Professeur de Pharmacie Chimique à la Faculté de Pharmacie
de Montpellier.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CADÉRAS DE KERLEAU,

Professeur d'Obstétrique à la Faculté de Médecine de Mont-
pellier.

AVANT-PROPOS

Avant d'exposer ce travail, je veux dire l'immense dette de reconnaissance que j'ai contractée envers mon Maître M. le Professeur JAULMES. Revenu à la Faculté après un éloignement de deux ans nécessité par les circonstances, il me fut difficile de me réadapter à la vie si minutieuse du laboratoire. M. le Professeur JAULMES fit preuve à mon égard d'un dévouement constant et d'une patience souriante dont il ne se départit jamais, malgré mes tâtonnements et mes essais bien souvent infructueux. C'est à lui que je dois d'avoir pu mener à bien ce travail et de le présenter aujourd'hui. Les mots comptent peu dans la vie. Aussi c'est simplement que je lui dirai du fond du cœur : Merci.

Je tiens à remercier M. le Professeur CASTEL de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de siéger à ce jury.

Nous sommes reconnaissants à M. le Professeur CADERAS DE KERLEAU de la confiance qu'il a bien voulu nous témoigner en s'adressant à notre laboratoire pour les recherches qu'il voulait entreprendre. Il a ainsi montré sa foi dans la minutie de nos méthodes et la sincérité de nos résultats. Les conclusions chimiques que nous avons pu obtenir deviendront en ses mains des résultats cliniques, et nous espérons ainsi avoir contribué quelque peu à resserrer les liens déjà si étroits qui unissent nos deux Ecoles.

Je remercie enfin les Services de la Maternité, et en particulier M. le Docteur PASCOET qui, dans des conditions souvent difficiles, n'a pas ménagé sa peine pour nous obtenir les cas les plus nombreux et les plus intéressants.

Que tous ces maîtres et ces amis soient assurés ici de mon affectueux dévouement.

INTRODUCTION

Une question qui préoccupe à juste titre les cliniciens est la protection du fœtus pendant sa vie intra-utérine contre les effets du Tréponème pâle de Schaudinn, soit que la syphilis soit conceptionnelle, anteconceptionnelle, soit que la mère soit contaminée après la gravidité. « La syphilis est la grande avorteuse », même si l'enfant naît vivant et viable, il porte en lui la tare de l'hérédospécificité.

Comment, dans le but de stériliser ou tout au moins de paralyser le développement du Tréponème, atteindre le fœtus et lui permettre de vivre et de se développer normalement? C'est une question que les médecins ont depuis longtemps étudiée, et on connaît les magnifiques résultats obtenus par COUVELAIRE (1) en traitant la femme enceinte par une médication arsenicale. Et bien avant la découverte du 606 par Erlich et des nombreux arsenicaux organiques par ses continuateurs, le mercure dont les propriétés antisiphilitiques sont connues depuis le moyen âge, était utilisé dans le même but et avec un certain succès, par les thérapeutes.

Plus récemment, les remarquables propriétés antisiphilitiques du bismuth et de ses composés, ont été utilisées avec un succès certain dans le même but.

Comment agissent sur le fœtus ces trois grands antisiphilitiques? Quels sont ceux qui pénètrent le mieux à travers le placenta, ou quels sont ceux qui le protègent le mieux? Dans quel cas faut-il donner la préférence à l'un ou à l'autre? Voilà autant de questions que se posent encore maintenant les cliniciens modernes, et à laquelle il n'est pas encore possible de répondre d'une manière raisonnée et irréfutable.

C'est pourquoi M. le Professeur CADERAS DE KERLEAU et ses collaborateurs ont-ils voulu étudier cette importante question du passage des médicaments antisiphilitiques à travers le placenta, et ont-ils fait appel au laboratoire de mon maître M. le Professeur JAULMES, pour le dosage des médicaments antisiphilitiques dans les pièces anatomiques ou les échantillons de sang qu'ils ont pu prélever dans leur clientèle hospitalière.

L'exécution de ces recherches et de ces analyses nous a été confiée par M. le Professeur JAULMES, et dans le présent travail, nous allons rapporter les méthodes utilisées dans ces différentes analyses, car quelques-unes ont été mises au point spécialement pour nos dosages, et nous indiquerons les résultats que nous avons obtenus.

Nos premiers efforts ont consisté tout d'abord à essayer les méthodes de dosage sensibles qui nous étaient nécessaires, de manière d'une part à en acquérir une bonne pratique, et d'autre part, à en vérifier l'exactitude et la fidélité.

(1) COUVELAIRE. Du dispensaire antisiphilitique de la Clinique Baudeloque. *Bull. Soc. Obst. et Gyn.*, Paris, p. 109.

C'est pourquoi nous avons étudié successivement les méthodes de dosage toxicologique de l'arsenic, du bismuth et du mercure, en faisant porter nos premières recherches sur des placentas normaux, auxquels nous avons ajouté des quantités faibles mais connues de ces trois poisons minéraux.

Nous pouvons dire dès l'abord que les résultats de nos essais chimiques ont été couronnés d'un plein succès en ce qui concerne l'arsenic, pour lequel d'ailleurs nous avons mis au point deux techniques personnelles.

Nos essais personnels nous ont donné des résultats assez satisfaisants en ce qui concerne le bismuth, aux faibles doses auxquelles nous devons nous attendre, mais nous avons essuyé un échec complet, nous l'avouons, en ce qui concerne la recherche toxicologique des traces infimes de mercure. Nous avons essayé successivement avec tout le soin voulu, la méthode classique toxicologique décrite dans le *Traité de KOHN-ABREST* (1) et les *Leçons de Toxicologie* de FABRE, RÉGNIER et CHÉRAMY (2), dans lesquels on détruit la matière organique par la méthode au chlore naissant, on précipite le mercure sous forme de sulfure que l'on reprend par l'eau régale. On évapore dans le vide à froid cette solution, puis on reprend par l'eau le résidu du chlorure de mercure. Celui-ci est ensuite déplacé de sa solution aqueuse par une spirale de cuivre, pour être finalement volatilisé dans le vide et condensé dans un tube capillaire, où il est transformé en biiodure par une trace d'iode en vapeur.

Ce procédé nous a permis de déceler 50 γ pour 100 grammes de placenta, nous n'avons pu descendre plus bas.

Nous avons essayé avec un égal insuccès, pour les très petites doses, la méthode de destruction alcaline préconisée récemment par MOREAU (3), dans laquelle le mercure est finalement décelé sous forme de reineckate de mercure. Nous avons été obligés d'abandonner ces recherches pour ce qui concerne ce métal mercure, malgré un grand nombre d'essais effectués pour trouver une méthode plus satisfaisante que celle de nos devanciers.

Dans ce travail, nous n'avons donc étudié que le passage de l'arsenic et du bismuth dans le placenta et le corps du fœtus, dans les conditions habituelles de thérapeutique humaine. Nous insistons sur ce dernier point, car aucune des femmes du service hospitalier n'a reçu d'injections spéciales (ou expérimentales en quelque sorte) avant l'accouchement.

Morphologie du placenta lors de la délivrance (4).

« Le placenta arrivé à terme est, dans l'espèce humaine, un disque de 16 à 18 centimètres de diamètre. Sa forme n'est pas toujours d'une régularité géométrique; il peut être réniforme, multilobé, en deux masses ou présenter un ou plusieurs cotylédons accessoires reliés à la grande masse placentaire par un pédicule vasculaire.

(1) KOHN-ABREST. *Traité de Chimie Toxicologique*, 1924, I, p. 475.

(2) FABRE (R.), RÉGNIER (Mlle), CHÉRAMY (P.). *Leçons de Toxicologie*, 1945, X, p. 26.

(3) MOREAU (R.). Contribution à l'étude Toxicologique du mercure. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1943.

(4) RADAODY-RALAROSY. Du placenta; du passage des médicaments antisyphilitiques à travers le placenta. *Thèse Doct. Méd.* Montpellier, 1938.

Son épaisseur est inégale, puisque de 1 cm. 5 à 3 cm. vers le centre, elle peut tomber à 0 cm. 6 à 0 cm. 4 sur les bords.

Son poids moyen, de 500 à 600 grammes, est inférieur au 1/6 ou au 1/5 du poids fœtal, dans les cas normaux.

Sa face utérine rouge, saignante et tomenteuse, est divisée par des sillons en 15 à 20 cotylédons. Sa face fœtale, lisse, est tapissée par l'« amnios » au-dessous duquel on voit serpenter les vaisseaux qui vont au cordon ombilical.

Le placenta syphilitique est hypertrophié, œdématié. Son poids dépasse 800 grammes et le rapport de ce dernier avec celui de l'enfant est supérieur à 1/5. Il est de couleur rose-sale dite « chair à saucisse ». Histologiquement, on trouve des lésions de sclérose au niveau du placenta et du cordon.

Sa double origine fait que l'on y distingue deux parties :

1. *Le placenta fœtal* comprend la plaque chorale et les villosités, qui flottent dans les espaces intervilleux et dont quelques-unes, les villosités crampons, adhèrent à la partie maternelle.

2. *Le placenta maternel* n'est autre chose que la caduque basale ou sérotine qui s'est modifiée au contact des villosités chorales. Elle comprend alors : une zone spongieuse où prédominent les culs-de-sac glandulaires, et une zone compacte farcie de cellules déciduales, qui ne sont autres que des éléments conjonctifs modifiés dans leur structure et leurs fonctions par la formation de riches enclaves cytoplasmiques. Cette sérotine envoie entre les cotylédons des cloisons qui peuvent descendre jusqu'à la plaque chorale, et forme à la périphérie du placenta une lame mince qui se réfléchit sur la plaque chorale.

Sur le bord du placenta, la fusion de la caduque, du chorion et de l'amnios constitue les membranes.

Lors de la délivrance, le décollement se fait par la déchirure de la zone spongieuse.

Rôle physiologique du placenta.

Le placenta est un organe accessoire à travers lequel s'effectuent les échanges nutritifs et respiratoires entre la mère et le fœtus. Comme l'a dit PRENANT (1) : « C'est un organe d'absorption fixé sur le milieu extérieur à l'œuf pour en soutirer les matériaux nutritifs dont l'embryon a besoin. » Mais comme il existe aussi une action réelle du placenta sur la mère, BAR a pu dire que « le placenta était le régulateur de la symbiose harmonique entre la mère et le fœtus pendant la grossesse ».

Le placenta a donc pour rôle essentiel celui de permettre des échanges entre deux circulations indépendantes : passage de substances nutritives (sucres, acides aminés, cristalloïdes, etc...), échange des gaz (oxygène et acide carbonique), échanges centrifuges de substances de déchet telle que l'urée, si bien qu'on pourrait croire au premier abord que le placenta n'est qu'un organe de transfert à travers lequel les substances passeraient

(1) PRENANT (A.). La morphologie du placenta. *La Semaine médicale*, 43, p. 361.

en suivant les lois générales de la diffusion des gaz et des substances dissoutes. Mais l'expérience clinique, aussi bien que l'expérimentation, prouve que le rôle du placenta est infiniment plus complexe, car il est constitué de tissus vivants, et sa structure histologique est très variable durant la gestation. Aussi son rôle ne se borne-t-il pas seulement à celui d'une simple membrane perméable.

Mlle GUTMANN et Mme G. LÉVY (2) ont démontré par la comparaison du sang maternel avec le sang fœtal, que même pour les substances facilement diffusibles, il ne s'agit pas seulement à travers le placenta d'un simple équilibre osmotique à travers une membrane perméable. De plus le placenta est une barrière infranchissable aux substances non diffusibles, telles que les protéines et les lipides. « L'enfant doit forcément les synthétiser à partir d'éléments plus diffusibles et de poids moléculaire faible, tels que sucres et acides aminés. »

Le placenta paraît donc devoir effectuer un travail physiologique infiniment plus complexe qu'une simple diffusion. Il joue très souvent le rôle de barrière vis-à-vis d'un grand nombre d'agents chimiques ou bactériologiques. Il est des corps qui traversent le placenta sans aucune difficulté, tels que les halogènes à l'état de combinaison saline, un grand nombre de sels alcalins, des composés organiques bien connus pour leur grande diffusibilité (alcool, chloroforme, éther, chloral). Les vitamines, les matières colorantes artificielles (bleu de méthylène, bleu trypan) passent facilement à travers le placenta.

Au contraire, le placenta se laisse difficilement traverser ou pas du tout par un certain nombre de métaux. Les auteurs d'ailleurs ne sont pas d'accord sur l'efficacité de fonction de barrière du placenta pour des métaux comme le plomb, l'arsenic. Les protides et les lipides, les toxines, les venins, les hormones ne passent pas à travers le placenta, et en un mot, toutes les substances peu diffusibles, par suite de leur poids moléculaire élevé ou de leur état physique colloïdal.

Les microbes immobiles ou peu mobiles ne passeraient pas, eux non plus, tandis que les virus filtrants passeraient sans difficulté, ainsi que les parasites doués de mouvements propres (Tréponèmes, Trypanosomes, Leishmanias).

D'ailleurs cette fonction de barrière évolue pendant toute la durée de la gestation et vers la fin de cette période, elle deviendrait extrêmement précaire, puisqu'on observe à ce moment le passage des hormones, alors qu'habituellement elles ne traverseraient pas le placenta.

MAX ARON a montré que des particules solides à l'état colloïdal pouvaient à ce moment franchir la barrière placentaire, ainsi que certains germes immobiles. Cette abdication de la résistance du placenta à la fin de la grossesse serait due à la disparition de la couche cellulaire de LANGHANS.

Nous ajoutons qu'il est bien connu que le placenta des mammifères inférieurs est plus complexe et paraît beaucoup moins perméable que le placenta de l'espèce humaine. Aussi attirons-nous l'attention sur le danger qu'il y a à induire des résultats de l'expérimentation sur les cobayes et les lapines, ce qui se passe dans l'espèce humaine.

(2) GUTMANN (Mlle) et LÉVY (Mme G.). Recherches biochimiques sur le rôle du placenta. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1934, **16**, p. 720-726.

Résultats obtenus par nos devanciers.

Les composés arsenicaux et bismuthiques passent-ils ou ne passent-ils pas à travers le placenta? Les résultats obtenus par les auteurs qui ont étudié ce problème sont assez décevants. Ils ne permettent pas de se faire une opinion très claire sur cette question.

En ce qui concerne l'*arsenic organique* :

— Pour MAYER (1) (1915), le 606 ne franchirait pas le placenta, mais son action heureuse constatée par COUVELAIRE (2) et ses très nombreux continuateurs, serait due à l'amélioration de l'état de la mère et à la modification du placenta qui deviendrait alors moins perméable aux virus et aux toxines syphilitiques.

— Pour UNDERHILL et AMATRUDA (3) (1923) qui ont utilisé la méthode de GUTZEIT, voisine de celle de CRIBIER et qui est douée d'une haute sensibilité, l'arsenic passerait bien à travers le placenta chez la lapine et la chatte, mais en quantité très faible, insignifiante par rapport aux quantités trouvées dans le placenta et le sang maternel.

— Pour CANDELA (1) (1929), l'arsenic des arsénobenzènes traverse bien la placenta et se retrouve non seulement dans le placenta, aussi bien dans la partie maternelle que dans la partie fœtale, mais aussi dans les reins et le foie du fœtus.

VIGNES et DEJUST (2) en 1925, ayant injecté du 914 pendant la gestation, ont constaté la présence dans le placenta, d'arsenic qui se localise surtout dans la partie fœtale de cet organe.

LUDWIG KRAUL et BODNAR (3) en 1925, ont constaté qu'après injection d'arsenicaux, il y a plus d'arsenic dans le sang du cordon que dans le placenta.

ZIEMKE (4), en 1929, constate que la plus grande partie de l'arsenic est retenue par le placenta, mais qu'il en passe dans le fœtus où il se retrouve surtout dans le foie et le tube digestif.

EASTMANN (5) en 1931, constate que l'arsenic est retenu par le placenta d'autant plus longtemps après la dernière injection que la dose injectée a été plus forte. C'est surtout la portion fœtale du placenta qui retient l'arsenic.

EASTMANN et DIPPEL (6) en 1933, injectant des arsénobenzènes de quatorze à vingt-cinq heures avant l'accouchement, n'ont observé que six

(1) MAYER. Passage de l'arsenic à travers le placenta. *Zeitschrift für Geburtshilfe und Gyna.*, Stuttgart, LXXVII, n° 1.

(2) COUVELAIRE. Du dispensaire antisiphilitique de la Clinique Baudeloque. *Bull. Soc. Obst. et Gyn.*, Paris, p. 109.

(3) UNDERHILL et AMATRUDA. The transmission of arsenic from mother to fœtus. *J. Am. Med. Soc.*, 1924, p. 2010.

(1) CANDELA. La recherche chimique et histologique de l'arsenic chez la mère et le fœtus. *Rev. Ital. Gyn.*, 1929.

(2) DEJUST et VIGNES (H.). Répartition de l'arsenic dans le placenta après injection de Novarsénobenzol. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 94, p. 314.

(3) KRAUL et BODNAR. Biologie du placenta. *Wiener. Klin. Woch.*, 1925, p. 1282.

(4) ZIEMKE. *Über den Durchgang des Arsens durch dem Placenta.*, 1929.

(5) EASTMANN. Arsenic content of human placenta following arsphenamine therapy. *Am. J. Obst. and. Gyn.*, Saint-Louis, 1931.

(6) EASTMANN et DIPPEL. Passage of arsenic through human placenta following arsphenamine therapy. *Bull. John. Hopkin. Hospi.*, 1933.

fois sur dix-sept le passage de l'arsenic dans le sang du fœtus, et dans ce cas-là, la concentration d'arsenic dans le fœtus est la centième partie de la concentration maternelle. D'autre part, lorsque la mère avait reçu un traitement arsenical pendant la grossesse, ils ont toujours observé la présence d'arsenic dans le méconium.

D'après les travaux histochimiques de RADAODY-RALAROSY (1) qui a étudié par la technique du Professeur CASTEL (2) les placentas de cobayes traités aux arsénobenzènes, l'arsenic s'accumule dans le placenta et surtout dans la partie maternelle. Ce n'est qu'à la fin de la grossesse que l'arsenic passe dans le placenta fœtal et même dans le cordon, ce qui prouve qu'à ce moment-là la barrière placentaire n'est plus infranchissable à l'arsenic.

D'après les travaux récents de MM. PATOIR, BEDRINE, POITEAU et BISERTE (3) l'arsenic du Novarsénobenzol passerait sans aucune difficulté à travers le placenta, si bien que l'on trouverait toujours de l'arsenic dans le sang du cordon, en quantité importante, de l'ordre de un à trois milligrammes par litre, et cette concentration serait tantôt plus faible que celle de la mère, tantôt presque aussi forte. Au contraire, dans le placenta, on ne trouverait pas d'arsenic ou seulement des traces.

L'opinion des auteurs lillois s'oppose d'une façon complète à celle de tous leurs prédécesseurs, en ce qu'ils estiment que le placenta ne retient pas d'arsenic, et que celui-ci passe avec la plus grande rapidité dans le fœtus, tandis que les prédécesseurs estimaient que le placenta retenait énergiquement et longtemps l'arsenic, et que celui-ci ne passait dans le fœtus qu'en petite quantité et surtout à la fin de la gestation.

Comme on le voit, le champ est encore ouvert à de belles recherches.

En ce qui concerne le *bismuth* :

Le passage du bismuth à travers le placenta a été l'objet de moins de travaux que celui de l'arsenic, mais leurs résultats sont beaucoup plus homogènes.

LÉONARD et LOVE (4) (1928) expérimentent sur des lapines et des chattes auxquelles ils injectent des doses très élevées de tartrate double de bismuth et de potassium ou de sodium. Ils observèrent que le bismuth passe facilement dans le fœtus et ne s'accumule pas dans le placenta.

ABRUZZESE (5) (1929) n'observe pas de passage du bismuth dans le fœtus lorsque ce métal est introduit par la voie intramusculaire, tandis qu'il passe facilement lorsqu'on l'introduit par la voie intraveineuse.

PACK, SCHARNAGEL et VEAL (6) (1930) ayant injecté par la voie musculaire du « bismudal », ont observé le passage du bismuth à travers le placenta, après l'emploi de doses mortelles.

(1) RADAODY-RALAROSY. Du placenta; du passage des médicaments antisypilitiques à travers le placenta. *Thèse Doct. Méd.*, Montpellier, 1938.

(2) CASTEL (P.). Contribution à l'étude histochimique de la localisation de certaines substances médicamenteuses ou toxiques (Arsenic et Bismuth). *Thèse Diplom. sup. Pharm.*, Montpellier, 1935.

(3) PATOIR (A.), BEDRINE (H.), POITEAU et BISERTE. Passage des médicaments antisypilitiques à travers le placenta. *Gyn. et Obst.*, 1944, 7, p. 153.

(4) LÉONARD, CHIFFORD et LOVE. Passage du bismuth à travers le placenta. *Ann. Pharmacol.*, 1928, 3, p. 282.

(5) ABRUZZESE. Il passaggio del bismuto della madre al feto. *Rev. Ital. Gyn.*, 1929.

(6) PACK, SCHARNAGEL et VEAL. Placenta transmission of bismuth. *Am. J. Syphilis.*, 1930.

FARÈS (1) rapporte une observation de son maître M. le Professeur VIGNES, d'après laquelle on n'a pas trouvé trace de bismuth dans le placenta d'une femme ayant subi quatre séries d'injections d'Iodobismuthate Ercé, la dernière ayant lieu six jours avant l'accouchement.

RADAODY-RALAROSY (2), par des méthodes histochimiques, déclare qu'il n'a jamais observé de fixation de bismuth dans le placenta. Mais cette assertion n'est pas très affirmative, car l'auteur admet que ses réactifs de détection peuvent ne pas donner avec le bismuth en combinaison organique *in situ* le précipité brun-rouge d'iodobismuthate de brucine, par lequel on peut détecter ce métalloïde.

PATOIR, BEDRINE, POITEAU et BISERTE (3) plus récemment, ont étudié le passage du bismuth à travers le placenta. Chez une femme, tout à fait au début de son traitement par du Bimétal, au moment de l'accouchement, il a été trouvé autant de bismuth (huit milligrammes par kilogramme) dans le sang maternel que dans le sang du cordon, et beaucoup moins dans le placenta (un tiers de milligramme par kilogramme). Chez deux femmes qui avaient terminé le traitement bismuthique au muthanol plusieurs mois avant l'accouchement, il a été retrouvé des quantités appréciables et équivalentes de bismuth dans le sang maternel et dans le sang du cordon (cinq à six milligrammes par kilogramme).

Chez trois femmes en plein traitement bismuthique, au moment de l'accouchement, les quantités de bismuth décelées dans le sang maternel ont été de deux à quatre centigrammes par kilogramme, tandis que dans le sang du cordon, il n'y avait que sept à quatorze milligrammes.

Ces expériences nous montrent le très facile passage du bismuth à travers le placenta, mais les fortes doses de bismuth trouvées dans le cas des femmes qui avaient terminé leur traitement plusieurs mois avant l'accouchement, sont étonnantes.

(1) FARÈS (ASSAD). Passage de certains métaux et métalloïdes à travers le placenta. *Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1935.

(2) RADAODY-RALAROSY. Du placenta; du passage des médicaments antisyphilitiques à travers le placenta. *Thèse Doct. Méd.*, Montpellier, 1936.

(3) PATOIR (A.), BEDRINE (H.), POITEAU et BISERTE. Passage des médicaments antisyphilitiques à travers le placenta. *Gyn. et Obst.*, 1944, **44**, p. 153.

CHAPITRE PREMIER

PASSAGE DE L'ARSENIC ORGANIQUE A TRAVERS LE PLACENTA

Méthodes de recherche de l'arsenic utilisées pour l'étude de la perméabilité du placenta

Nos prédécesseurs ont fait appel pour l'étude de la localisation de l'arsenic dans le placenta et le fœtus à des méthodes soit chimiques soit microchimiques ou même physicochimiques.

VIGNES et DEJUST (1) ont utilisé la méthode de Marsh pour rechercher cet arsenic dans la partie maternelle et la partie fœtale du placenta.

Par les méthodes histochimiques, on peut obtenir de beaux résultats. La technique à l'argent de SCHUMACHER (2) et JANOSO consiste à traiter le tissu à étudier par un sel d'argent (nitrate, carbonate ammoniacal, hydroxyde ammoniacal); ensuite, on fait agir un réducteur (révélateur photographique au formol).

M. le Professeur Pierre CASTEL (3) a indiqué une nouvelle technique histochimique par l'emploi de son réactif à l'hydrogène sulfuré :

alcool à 95°	50
chloroforme	50
HCl pur	3
H ₂ S	à saturation

qui présente, entre autres avantages, celui de réaliser en même temps la fixation et la réaction chimique, c'est-à-dire la précipitation *in situ* de l'arsenic sous forme de grains jaunes de sulfure d'arsenic.

(1) DEJUST et VIGNES (H.). Répartition de l'arsenic dans le placenta après injection de novarsénobenzol. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **94**, p. 314.

(2) SCHUMACHER (J.). *Zeitschr. exp. med.*, **63**, p. 804.

(3) CASTEL (P.). Contribution à l'étude histochimique de la localisation de certaines substances médicamenteuses ou toxiques (arsenic et bismuth). *Thèse Diplôm. Pharm. Sup.*, Montpellier, 1935.

C'est le procédé qu'a utilisé RADAODY-RALAROSY (4). Il est curieux de constater que lorsqu'on traite une femelle gravide par du rhodarsan ou des composés analogues, on obtient des dépôts d'arsenic jaune d'or *in situ* dans le placenta par exemple, alors que *in vitro*, le réactif de P. CASTEL ne réagit pas sur ces médicaments arsenico-organiques. C'est évidemment une nouvelle preuve que les arsenicaux organiques sont modifiés dans le corps humain : depuis longtemps on admet que c'est sous forme d'oxyde d'arsine que l'arsenic agit *in vivo*.

Enfin, l'Historiadiographie, suivant la technique de M. le Professeur LAMARQUE (1) (1936) est susceptible d'apporter des faits nouveaux. C'est une méthode d'exploration histologique par des Rayons Roentgen d'une longueur de 2,5 Å. Dès 1936, MM. CASTEL et TURCHINI ont utilisé cette méthode, dans le domaine expérimental, pour déceler les composés minéraux dans l'organisme.

Leur technique utilise des coupes fixées au formol. L'inclusion à la paraffine permet d'obtenir des coupes plus minces que la congélation. Il faut éliminer le plus possible la paraffine par le xylol, car elle est opaque aux Rayons X.

Sur le film, les composés métalliques apparaissent sous forme de points blancs. Le bismuth, en raison de son poids atomique plus élevé, est plus facilement décelable que l'arsenic.

Ces méthodes histochimiques et historiadiographiques donnent de très précieux renseignements sur la localisation histochimique de l'arsenic, mais elles ne sont que qualitatives. D'autre part, elles manquent quelque peu de sensibilité, car on ne peut par ce procédé, déceler l'arsenic que lorsqu'ils se trouve en quantité importante dans un tissu.

Une étude précise et quantitative par les méthodes toxicologiques les plus sensibles nous paraissait devoir être surtout utilisée pour étudier ce problème important de physiologie qu'est le passage de l'arsenic à travers le placenta, car les procédés toxicologiques sont infiniment plus sensibles que les procédés histochimiques.

Récemment cependant, MM. LESPAGNOL, MERVILLE et Mlle WERQUIN (2) ont publié une nouvelle microméthode de dosage de l'arsenic, applicable à tous les milieux biologiques et notamment au sang. D'après ces auteurs, cette méthode volumétrique permet des dosages en série avec une grande sensibilité.

Ce procédé consiste, après destruction de la matière organique et isolement du métalloïde sous forme d'arséniacé ammoniac-magnésien, à réduire le composé à l'état d'arsenic métal par le réactif de BOUGAULT, et à doser le corps simple en milieu fortement acide par l'iode, dont on détermine l'excès au moyen d'une liqueur titrée d'hyposulfite de soude décimormal.

(4) RADAODY-RALAROSY. Du placenta; du passage des médicaments antisypilitiques à travers le placenta. *Thèse Doct. Méd.*, Montpellier, 1938.

(1) LAMARQUE (P.). L'Historiadiographie. *Montpellier Médical*, 3^e s., 11, p. 47 et 68.

(2) LESPAGNOL (A.), MERVILLE (R.) et WERQUIN (Mlle). *Bull. Soc. Chim.*, 1943, 5^e s., 10, p. 7.

La sensibilité de la méthode est liée à celle du réactif de BOUGAULT. Ainsi que les auteurs l'ont indiqué, celle-ci est située aux environs du centième de milligramme, soit une sensibilité de 10 γ .

Les auteurs d'ailleurs n'indiquent pas avoir utilisé leur méthode pour des quantités d'arsenic inférieures au dixième de milligramme, soit 100 γ .

Cette sensibilité nous a paru tout à fait insuffisante en particulier pour le dosage de quantités minimales d'arsenic dans les placentas et les sangs du cordon non traités. Aussi nous sommes-nous adressés à la méthode de MAYENÇON-BERGERET modifiée par CRIBIER, qui avec celle de MARSH est une des plus sensibles que l'on connaisse.

Méthode de Cribier.

Il est à peine besoin de rappeler le principe de la méthode de MAYENÇON-BERGERET modifiée par CRIBIER (1).

Après destruction de la matière organique par la méthode azote-sulfurique, l'arsenic se trouve à l'état d'acide arsénique dans le liquide sulfurique de destruction. Ce liquide dilué au dixième environ est mis en contact avec du zinc pur activé. L'acide arsénique est alors réduit au maximum par l'hydrogène naissant, et l'arsenic se dégage de l'appareil sous forme d'hydrogène arsénié mélangé à de l'hydrogène. Ce mélange est alors conduit dans un tube où se trouve un papier imprégné de bichlorure de mercure, et l'hydrogène arsénié est fixé par ce sel en donnant une tache de chloroarséniure de mercure jaune, d'autant plus foncée que la concentration en hydrogène arsénié est plus forte. La tache jaune ainsi produite sur le papier sera d'autant plus longue que l'arsenic est en quantité plus élevée.

Lorsque la réaction du zinc sur l'acide sulfurique est terminée, ce qui demande plusieurs heures, on retire le papier au bichlorure de mercure et on le plonge dans une solution d'iode de potassium à dix pour cent. Le chloroarséniure jaune devient alors d'une teinte plus foncée, tirant sur le brun, tandis que le bichlorure de mercure qui n'a pas réagi est dissout dans l'iode de potassium sous forme d'iodomercurate. Le papier est alors rincé et séché.

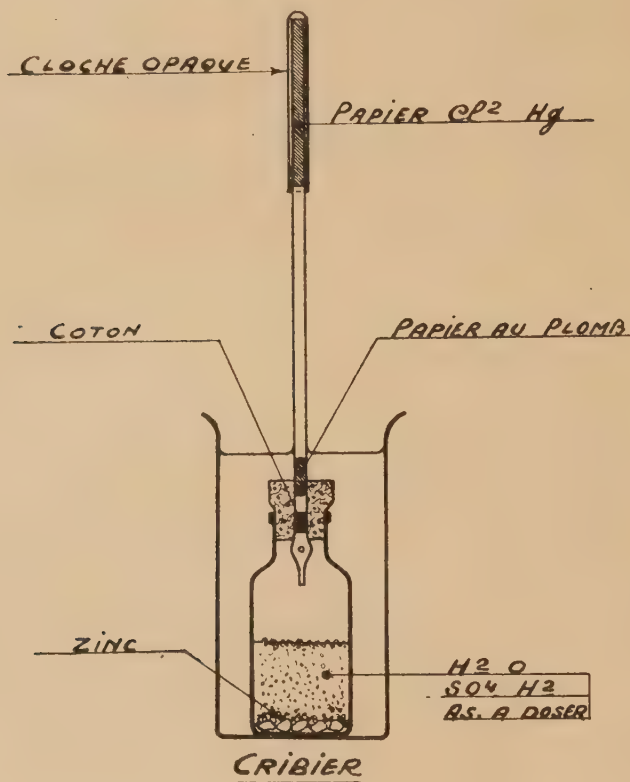
CRIBIER a eu le mérite de codifier très exactement la technique d'emploi de ce procédé et d'indiquer que pour obtenir des résultats quantitatifs, il convenait de s'assurer que l'arsenic était initialement uniquement sous sa forme pentavalente. Ce qu'il obtient par quelques gouttes de permanganate de potassium avant l'addition du zinc.

Dans la technique de CRIBIER, le liquide sulfurique de destruction doit comporter exactement 12 grammes d'acide sulfurique pur (soit 6 cm³ 5). On le porte à 75 cm³ et on doit employer huit grammes de zinc pur activé par du sulfate de cuivre (2).

(1) CRIBIER (J.). Sur la recherche de l'arsenic disséminé dans les médicaments chimiques. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1921.

(2) A la suite des travaux de JAULMES et RIVEMALE, nous préférons employer le chlorure de platine.

Voici le schéma de l'appareil de Cribier :



Ce procédé est capable d'après les auteurs, de déceler un γ d'arsenic. Pour notre part, nous n'avons jamais pu déceler moins de deux γ d'arsenic par ce procédé.

Cette technique est d'ores et déjà; on le voit, cinq fois plus sensible que le procédé LESPAGNOL, MERVILLE et WERQUIN, mais il est encore insuffisant pour déceler l'arsenic normal dans le placenta ou dans une quantité de sang de l'ordre de 20 grammes. Nous avons donc cherché mieux.

MM. JAULMES et RIVEMALE (1) ont publié, en 1939, une technique de MARSH très étudiée dans laquelle ils ont cherché à affiner la sensibilité de la méthode de MARSH, de façon à pouvoir déceler le $1/10 \gamma$. Dans cette technique, les auteurs réduisent le volume de la solution sulfurique au minimum possible, et ils réduisent le volume de l'appareil à 15 cm^3 seulement.

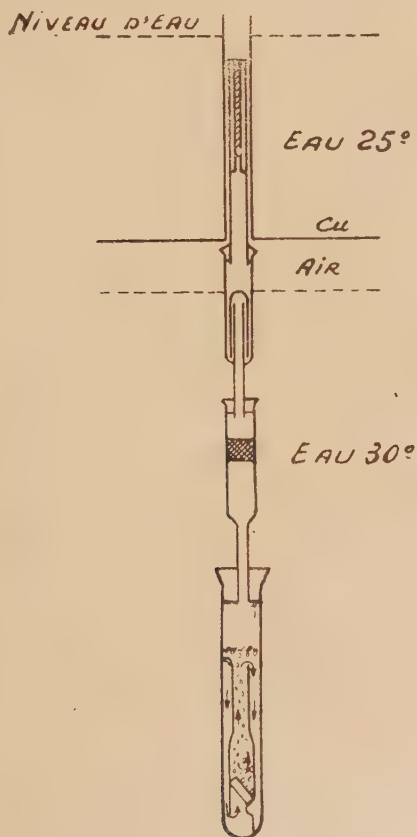
Leur technique très minutieuse demande beaucoup de soins, et elle est plus délicate et plus longue que la technique de CRIBIER.

(1) RIVEMALE (Y.). Sur l'appareil de Marsh. *Thèse Dipl. Pharm. Sup.*, Montpellier, 1939.

D'ailleurs cherchant la sensibilité maxima, nous nous sommes tout d'abord intéressés à la méthode américaine publiée en 1938 par Alfred E. How (2) qui serait capable de déceler le 1/100 γ d'arsenic.

Méthode How.

Ce procédé qui comblerait nos désirs par sa très remarquable sensibilité est basé sur le même principe que la méthode de CRIBIER, c'est-à-dire que l'arsenic du liquide sulfurique de destruction est transformé par l'action de l'hydrogène naissant en hydrogène arsénié, cet hydrogène naissant étant obtenu par attaque d'un alliage Zinc-Étain-Plomb-Fer à l'aide d'acide sulfurique. L'hydrogène arsénié est ensuite capté par le bichlorure de mercure qui imprègne non pas une bandelette de papier comme le faisait CRIBIER, mais un petit cordonnet de coton à tricoter.



HOW

(2) How (Alfred E.). Microdetermination of arsenic. *Industrial and Engineering chemistry. Analytic. Edit.*, 1938, p. 226.

Le chloroarséniure formé est ensuite développé et fixé à la fois, par immersion dans une solution de nitrate d'argent ammoniacal où il devient noir.

Mais, décrivons avec plus de précision cette technique de How et son appareil.

Appareil.

Le générateur consiste en un tube de Pyrex 23×150 mm. contenant un petit tube intérieur destiné à supporter le cylindre d'alliage zincique et à établir une circulation méthodique du liquide dans l'appareil, qui monte dans la partie centrale par l'entraînement des bulles d'hydrogène et qui redescend dans l'espace compris entre ce tube intérieur et le flacon générateur. Ainsi la totalité du liquide vient en contact un très grand nombre de fois avec le zinc.

Le gaz passe ensuite dans un petit tube où se trouve un tampon de coton comprimé imprégné d'acétate de plomb, puis dans un petit barboteur où on a placé cinq gouttes d'eau. Enfin, il entre dans un tube semi-capillaire de 1 mm. 3 de diamètre intérieur où l'on place le cordonnet imprégné de bichlorure de mercure.

Le zinc attaqué par l'acide sulfurique est en réalité un zinc contenant 0,5 d'étain, 0,01 de plomb et 0,0028 % de fer. Il doit être coulé en forme de cylindres de huit millimètres de diamètre et vingt millimètres de long, soit un cm^3 , c'est-à-dire sept grammes.

La solution arsenicale, que l'on place dans l'appareil, doit contenir trois cm^3 d'acide sulfurique et être portée à un volume de 40 cm^3 . L'arsenic doit être préalablement réduit par du bisulfite de soude, et l'excès d'anhydride sulfureux doit être chassé par ébullition.

Le générateur, ainsi que les deux tubes qui le surmontent, celui où on a placé le coton imprégné d'acétate de plomb et le petit barboteur où on a placé cinq gouttes d'eau, doivent être maintenus dans un bain d'eau à 30°. Au contraire, la portion de l'appareil où se trouve le cordonnet imprégné de bichlorure de mercure doit être maintenu à 25° par un bain d'eau spécial. L'opération est terminée en 45 minutes.

Nous avons construit cet appareil et nous l'avons essayé. Mais nous n'avons pas réussi à déceler le $1/100 \gamma$, comme l'a indiqué l'auteur américain. Par contre, nous avons parfaitement décelé le $1/10 \gamma$.

Nous nous sommes demandé si nous n'obtiendrions pas de meilleurs résultats en réduisant dans toute la mesure du possible le volume de la liqueur réagissante, puisque c'est par ce procédé que MM. JAULMES et RIVEMALE ont réussi à augmenter la sensibilité de l'appareil de MARSH. Nous avons alors construit un appareil sur le modèle de celui de How, mais plus petit, puisqu'il ne peut contenir que 14 cm^3 au lieu de 40 cm^3 . Le volume d'acide sulfurique pur contenu dans la liqueur réagissante doit être de 1 gramme 4, et la quantité de zinc introduit de 1 gramme 7. Nous n'avons pas décelé, même après cette modification, moins du $1/10 \gamma$.

Remarque.

Pour préparer le cordonnet imprégné de bichlorure de mercure, nous avons pris un cordonnet de coton de 0 mm. 8 de diamètre. Nous l'avons enroulé autour d'un bécber, que nous avons plongé dans une solution

alcoolique de chlorure mercurique à cinq pour cent, pendant toute une nuit, après avoir fait le vide sur la solution, de manière à chasser toutes les petites bulles d'air qui restaient emprisonnées dans le coton.

Nous avons ensuite essoré ce coton avec du papier buvard, et nous l'avons tendu dans le laboratoire, pendant toute une nuit, pour le faire sécher. Nous avons ensuite coupé ce cordonnet en morceaux de dix centimètres, que nous avons placés dans un flacon émeri à large ouverture.

How a préféré le cordonnet au papier, parce qu'il estime que le cordonnet est plus régulièrement imprégné que le papier. Nous ne pensons pas que cette opinion soit justifiée.

Méthodes utilisées.

Pour les recherches de l'arsenic pour lesquelles une grande sensibilité n'était pas nécessaire, nous avons utilisé la méthode de CRIBIER décrite ci-dessus, qui décèle à coup sûr deux γ .

Nous tenons cependant à préciser que nous avons utilisé en réalité, non pas la technique de CRIBIER originale, mais la technique modifiée en quelques détails, telle qu'elle est décrite dans son cours de Toxicologie et dans son ouvrage « Analyse des Vins » par M. JAULMES (1).

La principale modification consiste à faire passer l'hydrogène produit dans le générateur sur un petit rouleau de papier filtre imprégné d'acétate de plomb, avant son arrivée sur le papier au bichlorure de mercure.

Cette addition qui n'est pas reconnue nécessaire par CRIBIER et GRIFFON, nous a pourtant paru absolument indispensable comme d'ailleurs aux prédécesseurs de CRIBIER, car dans toutes nos opérations, nous avons constaté un léger brunissement du papier au plomb montrant la présence d'hydrogène sulfuré, et cela bien que notre acide sulfurique ait exactement la concentration indiquée par CRIBIER, et bien que nous ayons toujours soin de plonger le flacon générateur dans un bain d'eau froide pour éviter une élévation de température.

Pour rechercher l'arsenic dans les placentas et les sangs normaux, ainsi que pour rechercher l'arsenic dans les sangs du cordon, il nous fallait comme nous l'avons dit, une méthode beaucoup plus sensible.

Nous avons donc modifié la technique de CRIBIER, de manière à augmenter la sensibilité, en utilisant les résultats de l'étude du fonctionnement de l'appareil de MARSH, qui a été entreprise par MM. JAULMES et RIVEMALE (2).

Ces auteurs ont montré que pendant le dégagement d'hydrogène, il y a un rapport constant entre la concentration d'hydrogène arsénié dans l'hydrogène et la concentration de l'arsenic dans le liquide sulfurique qui réagit sur le zinc.

En exprimant les concentrations d'hydrogène arsénié en gramme d'arsenic par cm^3 d'hydrogène et en gramme d'arsenic par cm^3 de liquide, ce rapport s'élève à 0,04 lorsque l'arsenic est pentavalent, et 0,07 lorsque l'arsenic est trivalent, dans la liqueur sulfurique qui réagit sur le zinc.

(1) JAULMES (P.). Analyse des Vins. *Dubois et Poulain*, 1942, p. 102.

(2) RIVEMALE (Y.). Sur l'appareil de Marsh. *Thèse Diplom. Pharm. Sup.*, Montpellier, 1939.

Étant donné que précisément CRIBIER prend soin de transformer son arsenic en arsenic pentavalent, nous voyons que celui-ci passe moins vite dans l'hydrogène que s'il était trivalent. Il y a là une perte de sensibilité.

D'ailleurs, on a souvent signalé, et il est facile de le vérifier par le calcul, que dans la méthode de CRIBIER originale, une partie importante de l'arsenic reste dans le liquide et est ainsi perdue, ce qui diminue la sensibilité.

En effet, les huit grammes de zinc utilisés par CRIBIER, peuvent se dissoudre dans les douze grammes d'acide sulfurique pur que l'on met en œuvre. Il se dégage 2 litres 76 d'hydrogène mesuré à 0° et sous 760 millimètres de mercure. Étant donné que cet hydrogène est mesuré saturé d'eau et à 25° ou 30°, le volume qui s'échappe est en réalité 3 litres 200, soit environ 42 fois le volume du liquide mis dans le générateur. Étant donné que le coefficient de partage entre l'hydrogène et le liquide est de 0,04, on peut calculer la proportion d'arsenic qui reste dans le générateur par la formule :

$$\frac{A_2}{A_1} = e^{-K \frac{N}{M}} \quad (1)$$

A_1 = arsenic initial,

A_2 = arsenic restant,

K = coefficient de partage = 0,04

N = volume d'hydrogène qui se dégage

M = volume du liquide.

L'expression :

$$K \frac{N}{M} = 0,04 \times 42. \quad \text{Donc } \frac{A_1}{A_2} = e^{1,68}, \text{ c'est-à-dire } = 5,366.$$

L'arsenic restant dans le générateur s'élève à 19 % environ de l'arsenic mis en œuvre et ceci est un *minimum*. D'après GRIFFON et ses collaborateurs, il resterait dans l'appareil 70 % de l'arsenic initial.

Si l'arsenic avait été trivalent, cette proportion serait beaucoup plus petite, car, K étant égal à 0,07 au lieu de 0,04, l'expression

$$K \frac{N}{M} = 2,94 \text{ au lieu de } 1,68$$

Donc $\frac{A_1}{A_2} = 18,92$, c'est-à-dire qu'il ne resterait dans l'appareil que 5,3 % de l'arsenic mis en œuvre.

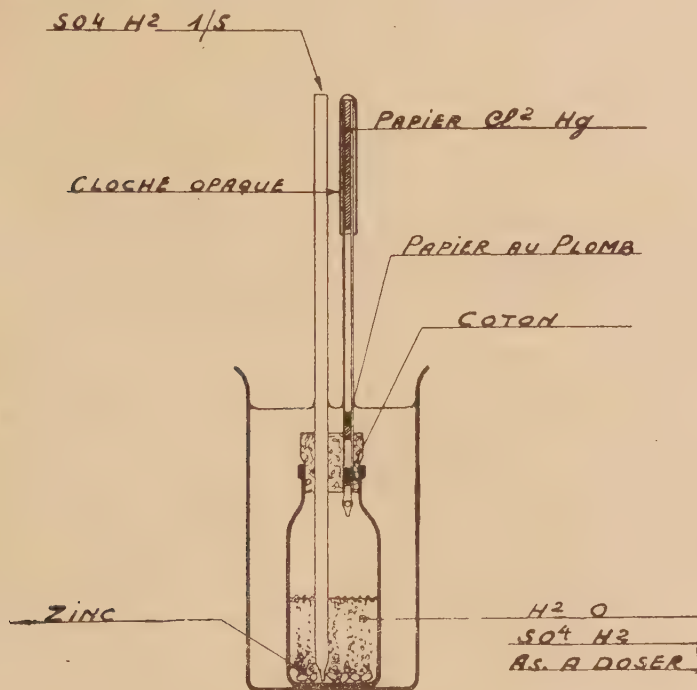
Comme on le voit, on a un réel intérêt à mettre dans l'appareil de CRIBIER l'arsenic sous forme trivalente plutôt que pentavalente, malgré la complication qu'entraîne la réduction préalable de l'arsenic pentavalent dans le liquide de destruction de la matière organique.

De plus, il est évident que si nous mettons dans l'appareil de Cribier une plus grande quantité de zinc et si le volume initial du liquide arsenical est plus petit, nous pourrions arriver à volatiliser tout l'arsenic sous forme d'hydrogène arsénié, en ajoutant de l'acide sulfurique dilué au liquide, au fur et à mesure de l'épuisement de l'acide sulfurique par son action sur le zinc. La technique sera moins commode, puisque nous serons obligés

(1) JAULMES (P.). Analyse des Vins. *Dubois et Poulain*, 1942, p. 245.

dans ce cas de surveiller le dégagement gazeux et d'ajouter de l'acide sulfurique dès que l'attaque sera presque arrêtée. Mais nous sommes alors sûrs d'avoir recueilli sur notre papier au bichlorure de mercure, *tout* l'arsenic contenu dans le liquide de destruction et non pas seulement une proportion plus ou moins élevée.

C'est sur ce principe que nous avons étudié et utilisé une technique dite « *Technique de Cribier sensibilisé* » dont voici la description :



CRIBIER SENSIBILISÉ.

Technique.

Dans un ballon Pyrex rigoureusement propre (lavé à l'eau régale, puis à l'eau distillée), on pèse un poids donné de placenta ou de sang du cordon (ce sang, à la fois artériel et veineux est recueilli par simple écoulement après la rupture du cordon). On ajoute sept cm³ d'acide sulfurique pur et cinquante cm³ d'acide nitrique pur. On chauffe sous la hotte. Les vapeurs nitreuses se dégagent. Dès que la masse tend à noircir, on ajoute de l'acide nitrique par un ou deux cm³, et cela jusqu'à ce qu'elle ne charbonne plus, ce qui indique que la matière organique a été détruite. On reprend par deux fois dix cm³ d'eau, pour hydrolyser le sulfate acide de nitrosyle, et on chauffe jusqu'à dégagement de vapeurs blanches.

Le résidu de destruction, qui ne doit contenir que cinq cm³ d'acide sulfurique, est porté à 50 cm³. On sature d'anhydride sulfureux à froid pendant un quart d'heure pour transformer l'arsenic pentavalent en arsenic

trivalent. On laisse toute une nuit. On porte à l'ébullition jusqu'à cessation de dégagement d'anhydride sulfureux (évaporer environ à dix cm³, soit le cinquième du volume). On complète à 50 cm³.

On prend alors un flacon de 125 cm³, à bouchon à deux trous. Par l'un des deux trous du bouchon passe un tube de cinq millimètres, où l'on a placé le papier à l'acétate de plomb et le papier au bichlorure de mercure, comme d'habitude. Le deuxième trou permet le passage d'un petit tube à entonnoir, permettant d'ajouter de l'acide sulfurique pendant l'opération. On recouvre d'une petite cloche opaque le tube réactif, pour éviter l'action de la lumière sur le papier au bichlorure de mercure.

On place ensuite dans le flacon 12 grammes de zinc activé au chlorure de platine (20 gouttes de solution à un pour mille de chlorure de platine). On ajoute les 50 cm³ de liqueur de destruction contenant cinq cm³ d'acide sulfurique. On bouche. On ajoutera de l'acide sulfurique au cinquième par dix cm³ toutes les cinq heures, jusqu'à disparition du zinc. On aura ainsi épuisé la liqueur au maximum.

La tâche sera ensuite comparée à une gamme établie à l'aide d'une solution titrée d'arsenic trivalent, dans le même appareil et suivant le même mode opératoire. Cette gamme présente des taches plus longues et plus foncées que dans le cas du « Cribier » ordinaire.

Par ce moyen, cette technique nous permet de déceler sans difficulté le 1/5 γ, soit une sensibilité dix fois plus grande que celle du « Cribier ordinaire ». Nous l'avons employée avec succès pour la recherche et le dosage de l'arsenic dans les placentas normaux, mais elle n'a pas été suffisante pour la recherche de l'arsenic dans les sangs du cordon normaux.

Voici d'ailleurs la correspondance entre la longueur des taches et la quantité d'arsenic mis en œuvre. A titre de correspondance, nous indiquons la longueur des taches obtenues par nous avec la méthode de « Cribier » ordinaire :

As en γ	Longueur des bandes en millimètres	
	Cribier sensibilisé	Cribier ordinaire
1/10	0,5	
1/5	0,75	
2/5	1	
1	1,5	
1.5	5	
2	6,5	2
3		3
5		4
8		6,5
10		8

Submicrodosage.

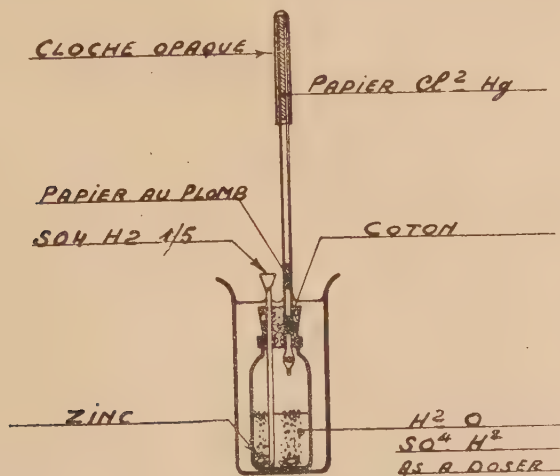
La technique suivante a été déduite de la précédente, mais pour la rendre encore plus sensible, on a diminué dans toute la mesure du possible le volume de l'appareil, le volume des solutions, la quantité de zinc et la

dimension des bandes de papier au bichlorure de mercure où doit se former la tache indicatrice, de manière à concentrer dans toute la mesure du possible, l'arsenic sur une petite surface où il sera visible.

Technique.

Le résidu de la destruction sulfo-nitrique du sang est repris par dix cm^3 d'eau distillée. On verse le tout dans une petite capsule de Pyrex tarée. Quelques cm^3 d'eau sont utilisés pour rincer le ballon. On évapore le liquide hydrosulfurique dans une capsule jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un cm^3 d'acide sulfurique (c'est-à-dire jusqu'à ce que le poids du résidu soit de deux grammes environ).

Ce résidu est alors repris par dix cm^3 d'eau et transvasé dans un petit ballon taré. On rince deux fois la capsule par cinq cm^3 d'eau, et on a ainsi dans le petit ballon une vingtaine de cm^3 de liquide que l'on sature à froid par un courant d'anhydride sulfureux. On laisse la réaction de réduction de l'arsenic se terminer pendant une douzaine d'heures. Au bout de ce temps, on chasse l'anhydride sulfureux et on concentre la liqueur jusqu'à cinq cm^3 (c'est-à-dire jusqu'à un poids de résidu égal à cinq grammes).



SUBMICRODOSAGE

Bien que l'arsenic soit trivalent, et comme il n'y a pas d'acide chlorhydrique et que la solution est surtout aqueuse, il n'y a pas de perte d'arsenic pendant cette évaporation. La solution est alors prête pour le dosage.

Dans un flacon de 15 cm^3 , nous plaçons deux pastilles de zinc platiné (c'est-à-dire un gramme). Ce flacon est bouché par un bouchon à deux trous. Par l'un passe un petit entonnoir permettant d'ajouter de l'acide en cours d'opération. Par l'autre passe un tube à dégagement composé de deux parties : l'une assez large (quatre millimètres de diamètre intérieur), où l'on place un tampon de coton et un petit rouleau de papier à l'acétate de plomb, l'autre (2 mm. 5 de diamètre intérieur) où l'on placera une

bande très fine (2 mm. 5 de large) de papier au bichlorure de mercure. On recouvre cette partie du tube à dégagement d'une petite cloche recouverte de papier noir, pour éviter l'action de la lumière. On ajoute d'un seul coup les cinq cm³ de liqueur arsenicale contenant un cm³ d'acide sulfurique, et on laisse la réaction se poursuivre jusqu'à ce que le dégagement d'hydrogène se ralentisse. On ajoute alors deux cm³ d'acide sulfurique au cinquième, et on recommence cette addition jusqu'à ce que le dégagement s'arrête. On recommence ainsi jusqu'à disparition du zinc.

On démonte alors l'appareil et on fixe le papier au nitrate d'argent ammoniacal, dont la formule est la suivante :

Solution de nitrate d'argent à 2 %		500
Ammoniaque pur		50
Eau		Q.S. 1000

On lave ensuite ce papier à l'eau ammoniacale, puis à l'eau pure et on le sèche. La tache d'arsenic se présente alors sous forme d'une tache noire très visible. On la compare aux taches obtenues suivant la même technique avec des solutions titrées de liqueur arsénieuse.

Par ce procédé, on peut détecter sans difficulté le 1/10 γ. Cette technique est utilisable pour des quantités d'arsenic comprises entre 1/10 et 2 γ.

Voici d'ailleurs la correspondance entre la longueur des taches et la quantité d'arsenic mis en œuvre. A titre de correspondance, nous indiquons la longueur des taches obtenues par nous avec la méthode de Cribier ordinaire.

As en γ	Longueur des bandes en millimètres		
	Submicrodosage		Cribier ordinaire
	Avec IK	Avec NO ³ Ag	
—	—	—	—
1/10	0,5	1,5	
1/5	1	2	
2/5	2	3	
1	3,5	5	
1,5	5	5,5	
2	5,5	6,5	2
3			3
5			4
8			6,5
10			8

Étant donné qu'on opère sur 20 cm³ de sang, cette méthode est donc capable de déceler une quantité d'arsenic supérieure à cinq γ par litre de sang, soit environ la moitié ou le tiers de la dose normale. Elle est donc parfaitement suffisante pour ce que nous désirons faire.

Essai de sensibilité générale de ces méthodes.

Afin de bien vérifier la sensibilité minima du Cribier sensibilisé (1/5 γ) et celle du Submicrodosage (1/10 γ), nous avons additionné deux cm³ de sang normal, une première fois de 1/5 γ, une deuxième fois de 1/10 γ

d'arsenic, et nous avons poursuivi la destruction et le dosage comme nous l'avons indiqué respectivement pour la technique du Cribier sensibilisés et pour celle du Submicrodosage. Nous avons chaque fois mis parfaitement en évidence dans le résidu final, la quantité ajoutée au début et confirmant ainsi la sensibilité minima de notre méthode.

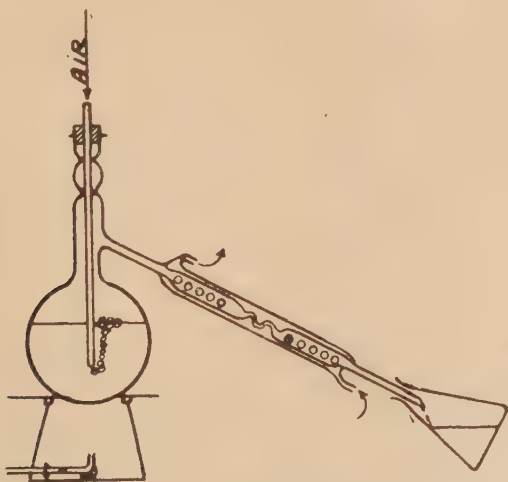
Purification des réactifs.

Pour des techniques aussi sensibles, il faut prendre de très grandes précautions pour éviter tout apport d'arsenic étranger à la matière que l'on veut analyser. La vaisselle utilisée est uniquement en Pyrex et lavée soigneusement à l'acide nitrique bouillant.

Le Zinc pur pour Toxicologie « Gabriel Bertrand » de la marque « Pro-labo » contient une quantité d'arsenic tellement faible qu'elle n'a pas été gênante, puisque dans tous nos essais sans arsenic, aucune tache n'est apparue, même pour les techniques les plus sensibles.

Par contre, les acides sulfurique et nitrique purs du commerce, qui nous donnent satisfaction tant que nous n'utilisons que la méthode de CRIBIER ordinaire, car tous les essais à blanc avaient donné des résultats négatifs, doivent être purifiés par distillation lorsque nous avons mis en œuvre le Cribier sensibilisé et le Submicrodosage.

Les procédés de distillation sont ceux utilisés au laboratoire de M. le Professeur JAULMES, qui ne nécessitent aucun appareillage compliqué tout en étant très simples et sans danger.



PREPARATION DE L'ACIDE SULFURIQUE PUR

L'appareil se compose d'un ballon tubulé de un litre, en Pyrex, auquel est soudé un petit réfrigérant de Pyrex. Dans le cas de l'acide sulfurique, il est nécessaire d'injecter de l'air dans l'acide en ébullition pour éviter tout soubresaut.

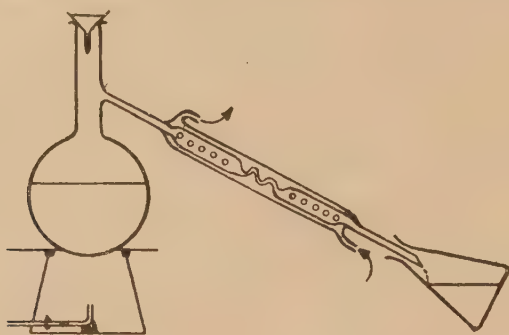
Comme on ne peut songer à boucher le ballon du distillat avec un bouchon de liège à travers lequel doit passer le tube d'injection de l'air, le col

de ce ballon a été étranglé au chalumeau de manière à laisser passer, à frottement doux, le tube d'injection de l'air. Une goutte d'acide sulfurique suffit à rendre le joint hermétique, sans qu'il soit nécessaire d'employer un appareillage onéreux à bouchage émeri.

Dans le cas de la distillation de l'acide nitrique, l'injection d'air est tout à fait inutile, et donc l'étranglement du ballon n'est pas nécessaire. Le ballon est simplement obturé en plaçant sur son ouverture un petit entonnoir de verre mince dont on a soudé la douille, et que l'on maintient rempli d'eau. Une petite quantité d'acide nitrique mouille dès le début le petit entonnoir, et cela suffit pour rendre le joint hermétique, la pression intérieure étant égale à la pression atmosphérique.

Pour la purification de l'acide sulfurique, nous avons placé dans le ballon 500 cm³ d'acide sulfurique pur du commerce, additionné de 20 cm³ d'acide nitrique, de façon à peroxyder l'arsenic.

Pour la purification de l'acide nitrique, nous avons placé dans le ballon 500 cm³ d'acide nitrique pur du commerce, additionné de 20 cm³ d'acide sulfurique, pour fixer l'arsenic comme l'a montré Gabriel Bertrand.



PREPARATION DE L'ACIDE NITRIQUE PUR

Dans l'un et l'autre cas, les 50 premiers cm³ de distillat ont été rejetés, et on reçoit le distillat suivant dans des flacons Pyrex soigneusement lavés à l'acide nitrique bouillant.

Étant donné que nous sommes partis d'acides du commerce déjà relativement purs, cette simple distillation a suffi pour ramener le taux d'arsenic dans les distillats à une valeur absolument négligeable.

D'ailleurs, chaque distillat a été contrôlé de la façon suivante : dans un ballon, on met 10 cm³ d'acide sulfurique pur distillé et 50 cm³ d'acide nitrique pur distillé. On évapore jusqu'à fumées blanches, puis on transvase dans une capsule et on évapore jusqu'à un cm³. Ce volume porté à cinq cm³ par de l'eau distillée, a été alors introduit dans le petit appareil Submicrodosage. Aucune tache n'est apparue sur le papier au bichlorure de mercure, même après fixation au nitrate d'argent ammoniacal. Or, les quantités d'acides sulfurique et nitrique utilisées dans cet essai sont le double de celles nécessaires pour la destruction de 20 cm³ de sang.

Cet essai vérifie de plus la propreté de la verrerie, l'absence d'arsenic dans le verre Pyrex, ainsi que l'absence de souillures dues aux poussières pendant la manipulation.

Résultats.

PLACENTAS ET SANGS NORMAUX

Placentas	Sangs
Dosage en γ /Kg.	Prise d'essai en g.
—	—
25	(19,6) 10
32	(20,5) 14
20	(20) 10
25	(22,4) 12
40	(18,7) 14
40	(20,2) 16
40	(16,4) 16
45	(9,6) 15
30	(20,6) 12
35	(21) 10
33	(23) 10
40	(25,5) 12
20	(19,1) 7
45	(20,2) 10
45	(21) 10
28	(22) 8
25	(21,5) 8
40	(20) 13
36	(25) 10
32	(21,2) 12
24	(20) 14
45	(17,2) 10
40	(18,1) 10
36	(17,2) 8
30	(15,2) 8
32	(18,7) 9
28	(19,6) 12
45	(20,9) 10
30	(21,3) 10
40	(22) 10

Nous avons pu faire 30 déterminations de placenta et de sang du cordon (sang à la fois artériel et veineux, recueilli par simple écoulement après la rupture du cordon) prélevés sur des accouchées non syphilitiques et qui n'ont jamais été traitées aux arsenicaux organiques.

Dans le tableau ci-dessus, on peut voir que la quantité d'arsenic que l'on trouve dans les placentas normaux varie entre 20 et 45 γ par kilogramme, soit une quantité deux fois moindre dans un placenta dont le poids s'est toujours maintenu entre 450 et 500 grammes.

Dans le sang du cordon, la quantité d'arsenic trouvée s'établit entre 7 et 16 γ par kilogramme. Elle est souvent en rapport avec la quantité d'arsenic trouvée dans le placenta, bien qu'il n'y ait pas de parallélisme absolu entre ces teneurs.

Étant donné la fréquence de l'arsenicisme larvé à notre époque, ces déterminations présentent un certain intérêt en elles-mêmes. Elles correspondent aux quantités d'arsenic que l'on trouve dans ces tissus, sans qu'aucune manifestation d'intoxication chronique n'ait été observée.

En tout cas, ces déterminations vont nous permettre d'interpréter en connaissance de cause, les résultats obtenus pour la teneur en arsenic des placentas et des sangs du cordon, lorsqu'un traitement antisyphilitique arsenical a été observé pendant la grossesse.

Dans le tableau ci-dessus, nous avons résumé toutes les observations correctes que nous avons pu faire, c'est-à-dire celles pour lesquelles les dosages de l'arsenic ont pu être menés avec des techniques satisfaisantes et appropriées.

De l'examen ce de tableau, nous pouvons conclure ce qui suit :

Dans le placenta de toute femme qui a été traitée avec un médicament arsenical pendant sa grossesse, nous trouvons toujours beaucoup plus d'arsenic que dans la normale, même lorsqu'un très grand nombre de jours sépare la dernière injection de l'accouchement. Dans ce dernier cas (plus de deux mois entre l'accouchement et la dernière injection), la quantité d'arsenic ne dépasse jamais deux fois la quantité normale d'arsenic, mais cette persistance de l'arsenic est très intéressante à noter.

La quantité d'arsenic qui reste dans le placenta est d'autant plus grande que la quantité totale d'arsenic injectée a été plus élevée, et dans une mesure plus faible que le traitement est moins éloigné.

Dans le sang du cordon, nous trouvons plus d'arsenic que dans la normale et même souvent beaucoup plus. On peut dire qu'approximativement, la quantité d'arsenic que l'on trouve dans le sang du cordon est d'autant plus forte que la quantité totale d'arsenic que l'on a injectée à la mère sous forme d'acétylarsan est elle-même plus forte. Même lorsque la dernière injection est antérieure de beaucoup à l'accouchement, on trouve beaucoup d'arsenic dans ce sang du cordon. Est-ce que cet arsenic est passé au moment des injections, ou a-t-il été stocké et n'a-t-il traversé cette barrière que plus tardivement? Nous ne pouvons pas répondre à cette question, mais il semble que l'on puisse parler d'une certaine rétention de l'arsenic dans le sang du fœtus où il persiste pendant plusieurs mois. Il est bien entendu que cette dose d'arsenic est très faible (inférieure à 0 mg. 2 par litre), quand on la compare à la dose d'arsenic qui se trouve dans le sang aussitôt après une injection intraveineuse, cette dose s'élève alors à 30 milligrammes d'arsenic par litre au maximum. Elle est pourtant environ 10 fois plus forte que la dose d'arsenic normal (0 mg. 01 par litre en moyenne).

L'observation n° 5 est particulièrement intéressante, car elle nous montre qu'un traitement institué très peu de temps avant l'accouchement et terminé seulement 12 heures avant celui-ci, n'a pas augmenté d'une façon marquée la teneur en arsenic du sang du cordon ni celle du placenta. Or, la quantité totale d'arsenic injectée à la mère a été faible, car il n'y a eu que trois injections. Cette observation semble montrer que le passage de l'arsenic à travers le placenta est assez lent et progressif pour les petites doses, et que les organes de fixation habituels de l'arsenic doivent d'abord être « chargés » en quelque sorte.

Les observations 116 et 71 dans lesquelles des quantités d'arsenic importantes ont été injectées peu de temps avant l'accouchement, nous montrent que dans ces conditions, l'arsenic passe bien à travers le placenta.

PLACENTAS ET SANGS TRAITÉS

Obs. n° (1)	Produits	Injections	Traitement		Placenta (2) Dosage en γ /Kg.	Sang du Cordon	
			Quantité totale injectée en g. d'As- métal.	Date des injections en jours avant l'accouchement		Prise d'essai en g.	Dosage en γ /Kg.
				Première injection	Dernière injection		
5	Acétylarsan	3 inj. 0 g. 15	0,45	10	12 heures	19,800	10
68	Acétylarsan	20 inj. 1 g.	20	210	180	19,200	110
116	Acétylarsan	7 inj. 0 g. 35	2,45	14	2	21,300	100
330	Acétylarsan	13 inj. 0 g. 65	8,45	?	?	22	120
17	Rhodarsan	0 g. 25	5,25	129	60	20,150	25
71	Acétylarsan	12 inj. 0 g. 60	7,20	29	2	22	100
115	Acétylarsan	4 inj. 0 g. 20	0,80	131	125	18,700	25
161	Acétylarsan	20 inj. 1 g.	20	66	21	19,900	190
201	Acétylarsan	3 inj. par semaine	/	?	?	non recueilli	
314	Acétylarsan	5 inj. 0 g. 25	1,25	202	172	26	115
354	Acétylarsan	10 inj 0 g 50	5	27	6	non recueilli	
378	Novarsénobenzol	18 inj. 0 g. 70	12,6	174	120	19,900	120
406	Acétylarsan	15 inj. 0 g. 75	11,25	84	30	non recueilli	
450	Acétylarsan	22 inj. 1 g. 10	24,2	75	28	21,700	120
496	Fontarsol	15 inj.	?	90	57	25,800	80
	Acétylarsan	10 inj. 0 g. 70	7				

(1) Accouchements : Tous à terme.

(2) Dosages effectués sur 50 grammes de placenta.

Remarque. — Les Cliniciens se sont refusés à faire un important prélèvement de sang à la mère après l'accouchement, et à faire une injection expérimentale d'arsenic organique pendant le travail.

Nos observations en ce qui concerne le rhodarsan et le novarsénobenzol sont malheureusement trop peu nombreuses et incomplètes pour en déduire quoi que ce soit. Mais il semble bien que le rhodarsan passe moins bien que l'acétylarsan à travers le placenta.

Nous avons pu analyser cinq fœtus : un normal, quatre dont la mère avait subi un traitement par l'acétylarsan, terminé quelques jours avant l'accouchement.

Les observations que nous avons faites sont résumées dans les tableaux ci-après :

Obs. n° 521.

Placenta et viscères d'un fœtus de six mois environ. *Pas de traitement*

Organe	Poids total de l'organe en g.	Prise d'essai en g.	Dosage de As. sur la prise d'essai en γ	As. dans organe total en γ	As. en γ/Kg.
Placenta	500	50	2,25	2,25	45
Foie	22	22	2	2	100
Intestins	39	39	1	1	25
Matière cérébrale	112	112	non décelé donc < 1/10	non décelé donc < 1/10	< 1
Rate	3	3	d°	d°	< 30
Rein	3,2	3,2	d°	d°	< 30
Os du crâne	6	6	d°	d°	< 15
Cœur	6	6	d°	d°	< 15
Poumons	20	20	d°	d°	< 5

Quantité totale d'arsenic dans les viscères analysés : 3 γ

Obs. n° 132.

Traitement : A partir du 3^e mois { 20 injections d'acétylarsan de 1 g.
 { 10 injections de muthanol (hors du service).

Traitement terminé avant le 24 janvier 1946.

Accouchement au 8^e mois le 27 février 1946.

Dosage de l'arsenic :

Organe	Poids total de l'organe en g.	Prise d'essai en g.	Dosage de As. sur la prise d'essai en γ	As. dans organe total en γ	As. en γ/Kg.
Placenta	500	100	50	250	500
Liquide amniotique	200	100	20	40	200
Matière cérébrale	120	50	30	72	600
Foie	26	10	50	130	5000
Rate	10	10	15	15	1500
Intestins	25	12	60	125	5000
Cœur et Poumons	14	14	30	30	2150
Os du crâne	30	30	8	8	270

Quantité totale d'arsenic dans les viscères analysés : 415 γ

Obs. n° 364.

Traitement : Acétylarsan : 10 injections intramusculaires de 0 g. 50 du 5 au 26 mars 1946.

Accouchement le 6 avril 1946. — A terme.

Organe	Poids total de l'organe en g.	Prise d'essai en g.	Dosage de As. sur la prise d'essai en γ	As. dans organe total en γ	As. en γ/Kg.
Placenta	500	50	8,5	85	170
Sang du cordon.	11,100	11,100	7	7	635
Cœur	19	19	6	6	315
Rate	10	10	4,5	4,5	450
Rein.	22,5	22,5	12	12	533
Poumons	50	25	9	18	360
Foie	48	26	9	17	350
Intestins	132	22	75	450	3400

Quantité totale d'arsenic dans les viscères analysés : 507 γ 5

Obs. n° 572.

Viscères de fœtus (jumeaux).

Traitement : Novarsénobenzol : 7 injections.

Dernière injection : 7 jours avant l'accouchement.

Organe	Poids total de l'organe en g.		Prise d'essai en g.		Dosage de As. sur la prise d'essai en γ		As. dans organe total en γ		As. en γ/Kg.	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Intestins	12	17	12	17	30	50	30	50	2500	2940
Foie	23	23	23	23	75	150	75	150	3260	6520
Poumons	11	5	11	5	5	4	5	4	455	800
Cœur	1,10	2,50	1,10	2,50	0,25	0,75	0,25	0,75	230	310
Rein.	1,25	1,20	1,25	1,20	0,15	0,30	0,15	0,30	115	140

Quantité totale d'arsenic dans les viscères analysés { Fœtus I : 110 γ 40
Fœtus II : 205 γ 05.

TABLEAU GÉNÉRAL

Organe	Obs. n° 521	Obs. n° 132	Obs. n° 364	Obs. n° 572	
	As. normal	Dernière injection 33 jours avant acc. 20 inj. d'acétylarsan de 1 g.	Dernière injection 15 jours avant acc. 10 inj. de 0 g. 50	Dernière injection 7 jours avant accouch. 1 inj.	
	en γ /Kg.	en γ /Kg.	en γ /Kg.	en γ /Kg.	
				1 ^{er} fœtus	2 ^e fœtus
Placenta	45	500	170		
Matière cérébrale .		600			
Os du crâne		266			
Foie	100	5000	350	3260	6520
Rate		1500	450		
Cœur		2150	315	244	312
Poumons			360	455	800
Intestins	25	5000	3400	2500	2940
Rein			533	110	140

Nous constatons que dans le fœtus normal (*obs.* 521), il y a excessivement peu d'arsenic, que la quantité totale trouvée dans les viscères atteint seulement trois γ . La concentration de l'arsenic dans le foie n'atteint que 100 γ par kilogramme et dans les intestins 25 γ par kilogramme. Dans les autres organes, l'arsenic n'a pas été décelable.

L'observation 132, pour laquelle un traitement au muthanol et à l'acétylarsan a été pratiqué, montre que ce fœtus est très riche en arsenic. La mère a reçu en tout 20 injections d'acétylarsan de un gramme. La dernière injection remonte à 33 jours avant l'accouchement. Le traitement a commencé au troisième mois, c'est-à-dire que pendant la plus grande partie de la grossesse, la mère a été imprégnée d'acétylarsan. D'ailleurs la teneur en arsenic du placenta est tout particulièrement élevée.

Dans les viscères totaux du fœtus, nous trouvons 415 γ d'arsenic et la concentration maxima de cet arsenic atteint 5.000 γ par kilogramme pour le foie et l'intestin. L'arsenic se trouve également en quantités importantes dans les os du crâne, la matière cérébrale, les poumons, le cœur, la rate.

Notons par avance, nous y reviendrons, que le bismuth a également traversé la barrière placentaire.

Dans l'observation 364, la quantité totale d'acétylarsan injectée à la mère est quatre fois plus faible que précédemment, mais le traitement a été terminé 11 jours seulement avant l'accouchement. L'enfant était à terme, alors que précédemment l'accouchement s'est produit au huitième mois. Le placenta est aussi beaucoup moins riche en arsenic que dans l'observation précédente.

Dans tous les viscères, nous trouvons de l'arsenic. Le sang du cordon est exceptionnellement riche (635 γ par kilogramme). Mais la concentration en arsenic du foie est beaucoup moins forte que précédemment, puisqu'elle n'atteint que 350 γ par kilogramme. Au contraire, celle de l'intestin est très élevée, puisqu'elle atteint 3.400 γ par kilogramme.

Bien que la concentration de l'arsenic dans les tissus soit bien moins élevée que dans l'observation 132, la quantité d'arsenic contenue dans les viscères est plus élevée parce que ces organes sont beaucoup plus volumineux chez le fœtus à terme.

L'observation 572 a ceci de remarquable qu'elle porte sur deux jumeaux et que la mère a été traitée, non pas à l'acétylarsan comme précédemment, mais au novarsénobenzol (sept injections dont la dernière remonte à sept jours avant l'accouchement).

Nous notons chez ces deux jumeaux une grande richesse en arsenic des viscères, avec pourtant une très sensible différence entre les deux. La concentration de l'arsenic dans le foie atteint 6.520 γ par kilogramme pour l'un et 3.260 γ par kilogramme pour l'autre, dans les poumons 800 γ par kilogramme pour l'un et 455 γ par kilogramme pour l'autre, dans les intestins 2.940 γ par kilogramme pour l'un et 2.500 γ par kilogramme pour l'autre, si bien que dans l'un des fœtus la quantité d'arsenic trouvée dans les viscères s'élève à 205 γ pour l'un et 110 γ pour l'autre.

Cette observation prouve en tout cas que le novarsénobenzol est capable de traverser la barrière placentaire et de venir imprégner assez fortement les tissus du fœtus.

En résumé.

De l'ensemble de ces opérations, il résulte que l'on peut penser qu'au cours d'un traitement arsenical par l'acétylarsan en particulier, l'arsenic ne passe à travers le placenta qu'à partir d'une certaine imprégnation du placenta, lorsque les organes de fixation et de défense de l'organisme maternel ont fixé un certain taux d'arsenic. Le traitement étant poursuivi, l'arsenic passe à travers le placenta en même temps qu'il se fixe sur cet organe. Le fœtus conserve dans son sang et dans ses organes des quantités appréciables d'arsenic.

On peut émettre l'hypothèse que l'arsenic ne passe pas du fœtus vers la mère ou tout au moins que ce passage est très lent. Il est probable que cet arsenic a subi des modifications chimiques et n'est plus sous la forme d'acétylarsan relativement diffusible.

CHAPITRE II

PASSAGE DU BISMUTH A TRAVERS LE PLACENTA

Méthodes de recherche du bismuth utilisées pour l'étude de la perméabilité du placenta

Les auteurs dont nous avons rapporté les travaux plus haut ont fait appel soit à des méthodes histochimiques, tel RADAODY-RALAROSY (1) soit à des méthodes spectroscopiques, dans l'observation de VIGNES rapportée par FARÈS (2), soit à des méthodes chimiques et toxicologiques employées par MM. PATOIR, BEDRINE, POITEAU et BISERTE (3). Ce dernier procédé dû à MM. LESPAGNOL, MERVILLE et Mlle CROUWY (4) consiste à traiter la solution bismuthique provenant de la destruction de la matière organique, par le formol en milieu sodique. Après une demi-heure de séjour au bain-marie bouillant, on centrifuge. Le bismuth précipité est ensuite lavé, et il reste à le titrer, en le faisant réagir en milieu fortement chlorhydrique sur un excès connu de solution titrée d'iode. On termine le dosage en titrant l'excès d'iode par l'hyposulfite de soude.

Les auteurs ont essayé leur méthode sur des quantités de bismuth de l'ordre du centigramme, mais étant donné que un cm^3 décinormal correspond à 6 mg. 96 d'iode, on peut estimer *à priori* qu'il est à la rigueur possible de déceler par ce procédé des quantités de bismuth de l'ordre de 35 γ (correspondant à une goutte d'une solution d'iode centinormal).

Nous avons essayé cette méthode avec des quantités de bismuth de l'ordre du centigramme, ensuite de l'ordre du milligramme, ajoutées à du sang. Nous avons bien retrouvé les quantités de l'ordre du centigramme comme les auteurs l'indiquent, mais pour des quantités de l'ordre du milligramme, les résultats de notre dosage n'ont pas été satisfaisants : pour un milligramme ajouté, nous avons trouvé 7/10 de milligramme, pour deux milligrammes ajoutés, nous en avons retrouvé 1 mg. 4. La présence du fer

(1) RADAODY-RALAROSY (P.). Du placenta; du passage des médicaments antisyphilitiques à travers le placenta. *Thèse Doct. Méd.*, Montpellier, 1938.

(2) FARÈS (ASSAD). Passage de certains métaux et métalloïdes à travers le placenta. *Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1935.

(3) PATOIR (A.), BEDRINE (H.), POITEAU et BISERTE. Passage des médicaments antisyphilitiques à travers le placenta. *Gyn. et Obst.*, 1944, **44**, p. 153.

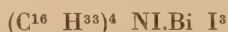
(4) LESPAGNOL (A.), MERVILLE (R.) et CROUWY (Mlle). *Bull. Soc. Chim.*, 1944, 5^e s., **11**, p. 543.

dans le sang apporte une perturbation importante à ce dosage en rendant le virage fuyant. Ce fer se retrouve en effet dans le précipité sous forme d'hydrate ferrique, en même temps que le bismuth. Il est dissous dans l'acide chlorhydrique ajouté au moment du titrage iodométrique, et l'on sait que les sels ferriques réagissent sur les iodures en milieu acide. Cette action perturbatrice ne nous paraît pas avoir été prise en considération par les auteurs de cette méthode ni par les utilisateurs.

Cette sensibilité ne nous a pas paru suffisante et ce procédé ne nous paraît pas sûr. Nous avons préféré utiliser un des procédés colorimétriques si sensibles qui ont été mis au point ces dernières années par les toxicologues.

Tous ces procédés consistent à faire rentrer le bismuth à doser dans une combinaison iodobismuthique d'alcaloïde. Cet iodobismuthate est soluble dans certains solvants en les colorant en brun-rouge plus ou moins foncé.

C'est GIRARD et FOURNEAU (1) qui ont indiqué les premiers un procédé bien étudié basé sur ce principe. Ils agitent la solution renfermant le bismuth à doser, additionné d'iode de potassium et acidulé, avec un très petit volume d'une solution benzénique d'hydrate de tétracétylammonium. Le benzène se colore en rouge parce qu'il contient de l'iodobismuthate de tétracétylammonium, de formule :



Le fer qui est précisément abondant dans la liqueur de destruction lorsqu'on veut doser le bismuth dans le sang, trouble la réaction parce que le sel ferrique libère l'iode de l'iodeur alcalin, et cet iode colore très fortement le réactif benzénique en brun. Pour éviter cette action perturbatrice, GIRARD et FOURNEAU ajoutent à la liqueur bismuthique une solution saturée de formiate de soude additionnée d'acide formique et de sulfite de soude en proportions déterminées (Formule indiquée plus loin). Ce procédé permet aux auteurs de déceler $1/4 \gamma$ de bismuth.

M. le Professeur PICON (2), ayant longuement étudié les solubilités de l'iodobismuthate de quinine dans un grand nombre de solvants, a décrit un procédé de dosage qui a beaucoup d'analogie avec celui de MM. GIRARD et FOURNEAU, dans lequel le benzène est remplacé par la cyclohexanone et l'hydrate de tétracétylammonium par la quinine. Ces auteurs reconnaissant la nécessité d'éliminer le fer, l'éliminent du liquide de destruction par lavage à l'éther du milieu fortement chlorhydroazotique. Le bismuth est alors précipité en milieu alcalin par le sulfhydrate d'ammoniaque, et le sulfure de bismuth est dissous dans l'acide nitrique, auquel on ajoute la liqueur formo-iodurée de FOURNEAU pour masquer la petite quantité de fer restant, un peu de solution de sulfate de quinine et de la cyclohexanone.

Cette méthode permet de déceler sans difficulté le microgramme de bismuth.

(1) GIRARD (A.) et FOURNEAU (E.). Sur une nouvelle méthode, de sensibilité extrême, pour la recherche, la séparation et le dosage du bismuth. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **183**, p. 610.

(2) PICON (M.). Sur quelques solubilités de l'iodobismuthate de quinine. *Bull. Soc. Chim.*, 1934, p. 926.

Pour notre part, nous avons utilisé la méthode de PICON, car nous avons pu nous procurer sans trop de difficulté la cyclohexanone et le sulfate de quinine, tandis que nous n'avons pu avoir les matières premières pour préparer l'hydrate de tétracétylammonium. Nous avons simplement utilisé une autre méthode pour concentrer le bismuth dans la liqueur de destruction, éliminer le fer et l'acide sulfurique.

Technique.

Le liquide provenant de la destruction azotosulfurique dont le volume atteint sept à dix cm³ de liqueur essentiellement sulfurique, est dilué avec 20 cm³ d'eau distillée dans un tube à centrifuger. On ajoute un cm³ de bichlorure de mercure en solution saturée. Dans la solution tiède, on fait passer un courant d'hydrogène sulfuré pendant une demi-heure. Après un quart d'heure de repos, on centrifuge et on lave deux fois à l'eau le précipité de sulfure de mercure contenant les sulfures des métaux lourds. Le fer restant intégralement dans la solution est ainsi éliminé.

Le précipité est ensuite dissous dans l'eau régale (un cm³ d'acide nitrique et deux cm³ d'acide chlorhydrique), et transvasé dans une petite capsule de silice. On dessèche à l'étuve, puis on porte une demi-heure à 400° dans un petit four spécial. Le chlorure mercurique est alors complètement volatilisé. On reprend le faible résidu par deux cm³ d'acide nitrique pur et on évapore à l'étuve à 100°. Le résidu est alors repris par cinq cm³ d'acide nitrique au dixième. On ajoute à cette liqueur :

5 cm ³ liqueur formiodurée de GIRARD et FOURNEAU	
0 cm ³ .1 sulfate de quinine	
1 cm ³ cyclohexanone pure	

On agite. Par le repos, la cyclohexanone se rassemble et surnage la solution aqueuse. Elle est colorée en rouge orangé par l'iodobismuthate de quinine. On compare cette coloration à une gamme étalon.

Préparation des réactifs.

Acides. — Les acides sulfurique et nitrique doivent être préalablement distillés par le procédé indiqué à propos de la recherche de l'arsenic.

Liqueur formiodurée de Girard et Fourneau :

Formiate de soude	200 g.
Iodure de potassium	30 g.
Sulfite de soude cristallisé	5 g.
Acide formique pur	5 cm ³
Eau	Q.S.P. 1000 cm ³

Dans 800 cm³ d'eau distillée, on dissout les constituants, puis on étend à un litre. On conserve en flacons bien bouchés, à l'abri de la lumière. A la longue, les propriétés de ce réactif se modifient, l'acide formique agissant sur l'acide sulfureux engendre des traces d'acide hydrosulfureux (reconnaissable à ce qu'il précipite immédiatement du bismuth métallique noir). Il est de grande importance de le débarrasser de cette impureté avant l'emploi de la liqueur. Il suffit pour cela de l'aérer en l'agitant vigoureusement pendant une minute dans un flacon rempli au quart et réservé à cet usage.

Ce réactif doit être de préparation récente.

Solution de sulfate de quinine.

Sulfate de quinine.....	1 g.
Acide sulfurique	4 g.
Eau distillée.....	Q.S.P. 50 cm ³

Cyclohexanone.

La cyclohexanone technique contient des impuretés, qui dans l'essai à blanc donnent une coloration.

Il faut la purifier. On prend la cyclohexanone technique « Prolabo ». On la distille à 65° - 75° sous 15 - 18 millimètres de mercure. On obtient ainsi un produit rigoureusement incolore.

Préparation de la solution titrée de bismuth.

La préparation d'une solution titrée de bismuth est nécessaire pour l'établissement d'une gamme-étalon. On pèse 50 centigrammes de bismuth pulvérisé. On dissout dans cinq grammes d'acide nitrique. On chauffe dans un petit ballon en Pyrex de 50 cm³. On ajoute 40 grammes d'acide nitrique. On porte à 500 cm³. Un cm³ de cette liqueur correspond à un milligramme de bismuth.

Essais de sensibilité de la méthode.

1. Essai-témoin :

5 cm ³	liqueur de GIRARD et FOURNEAU
0 cm ³ .1	sulfate de quinine
1 cm ³	cyclohexanone rectifiée

Ne doit donner aucune coloration. Avec la cyclohexanone impure : coloration jaune rougeâtre au bout d'une heure.

2. Sensibilité :

5 cm ³	liqueur de GIRARD et FOURNEAU
0 cm ³ .1	sulfate de quinine
10 γ	bismuth
1 cm ³ .	cyclohexanone rectifiée

Coloration rose de la cyclohexanone, qui ne se produit que lorsqu'on ajoute de la cyclohexanone. Étant très faible, elle n'apparaît que rassemblée dans la couche de dissolvant.

10 γ constitue la sensibilité minima de la méthode.

3. Essai de sensibilité générale.

Afin de bien vérifier la sensibilité minima de la méthode et sa bonne marche, nous avons opéré une destruction sulfo-nitrique sur un placenta normal additionné de 10 γ de bismuth. En suivant le procédé plus haut indiqué, nous avons parfaitement mis en évidence cette quantité dans le liquide final.

Etude des traces d'impuretés.

Le fer qui a été signalé par GIRARD et FOURNEAU comme l'impureté la plus gênante, ne nous gêne pas, puisque nous l'avons éliminé par précipitation en milieu sulfhydrique acide. D'ailleurs, nous avons ajouté pour plus de sûreté du réactif de GIRARD et FOURNEAU.

Par contre, nous pourrions craindre que les métaux lourds précipités en même temps que le bismuth par l'hydrogène sulfuré, ne soient gênants. Le cuivre colore en effet en rouge-sang la cyclohexanone, tandis que le liquide aqueux est jaune verdâtre. Mais cette coloration n'apparaît que pour de fortes concentrations en cuivre, et de plus elle est fugace et disparaît au bout de cinq à six heures.

Le plomb donne une coloration jaune-faible de la cyclohexanone, lorsqu'il est en forte quantité.

Le mercure donne un trouble dans la couche aqueuse. Mais il ne doit plus en rester puisqu'on l'a volatilisé à 400°.

Donc, la présence de tous ces métaux ne peut pas troubler la réaction et nous induire en erreur. La coloration rouge-orangé de la cyclohexanone par le bismuth est d'ailleurs très résistante et persiste plusieurs heures.

RESULTATS

Le bismuth normal dans le placenta et le sang du cordon.

Nous n'avons jamais pu déceler de bismuth dans 100 grammes de placenta normal ni dans 20 grammes de sang normal, c'est-à-dire que la teneur en bismuth est inférieure à 0 mg. 1 ou 100 γ par kilogramme de placenta et à 0 mg. 5 ou 500 γ par kilogramme de sang.

C'est tout ce que nous pouvons affirmer. Il est infiniment probable qu'il y en a beaucoup moins que la limite que nous indiquons. Mais nous ne pouvons pas affirmer qu'il n'y en ait pas du tout, parce que la méthode de dosage que nous avons employée n'en a pas décelé.

Le bismuth dans le cas des traitements antisyphilitiques.

Les résultats que nous ont données l'analyse des placentas et des sangs du cordon qui nous ont été fournis par les Services de la Maternité, sont réunis dans les tableaux ci-après :

Obs. n° 132.

Traitement : A partir du 3^e mois { 20 injections d'acétylsarsan de 1 g.
10 injections de muthanol.

Terminé avant le 24 janvier 1946.

Accouchement au 8^e mois, le 27 février 1946.

Dosage du bismuth :

Organe	Poids total de l'organe en g.	Prise d'essai en g.	Dosage du bismuth sur la prise d'essai en γ	Quantité de bismuth dans l'organe total en γ	Quantité de bismuth en γ /Kg.
Placenta	500	100	non décelé donc < 10	non décelé	non décelé
Liquide Amniotique . . .	200	100	40	80	400
Matière Cérébrale	120	50	non décelé donc < 10	non décelé	non décelé
Foie	26	15	12	20	800
Intestins	25	12	6	12	500

Quantité totale de bismuth dans les viscères analysés : 32 γ

Obs. n° (1)	Produits	Injections	TRAITEMENT				Sang du Cordon	
			Quantité totale injectée en g. Bi-métal	Date des injections en jours avant l'accouchement		Placenta — Dosage en γ/Kg.	Prise d'essai en g.	Dosage en γ/Kg.
				Première injection	Dernière injection			
13	Quinby	1 série 10 inj.	1,50	210	90	80	19,800	< 500
	Bivatol	1 série 10 inj.						
68	Quinby	10 inj.	1	210	135	70	19	< 500
112	Quinby	12 inj.	1,20	120	90	80	20,150	< 500
17	Bivatol	18 inj.	1,20	180	30	400	19,200	< 500
		5 inj.						
239	?	3 séries au Bi. : ..	?	120	< 8	1100	8,50	< 1000
		2 séries de 12						
		1 série de 4						
314	Bivatol	12 inj.	1,25	150	< 8	850	27	< 400
		12 inj.						
354	Muthanol	24 inj.	4,65	?	?	400	non recueilli	
378	Muthanol	5 inj.	0,97	210	180	120	27,700	< 400
426	Muthanol	3 séries de 10	6,60	210	8	150	30	330
		1 série de 4						
450	Muthanol	12 inj.	2,30	90	28	300	22,100	< 500
524	Quinby	24 inj.	2,40	210	16	500	46,800	< 200

(1) Accouchements tous à terme, sauf observation n° 68 : Accouchement prématuré et spontané à 8 mois 1/2 de la grossesse.

Quinby : Ampoules de 3 cm³ contenant 10 cg. de bismuth.

Muthanol : Ampoules de 1 cm³ 5, à 15 cg. de bismuth hydroxyde ou 12 cg. 92 de bismuth-métal par cm³.

Bivatol : Ampoules de 1 cm³ 5 à 3 cg. 5 de bismuth-métal par cm³.

On peut voir que nous avons toujours trouvé du bismuth dans le placenta. Cette quantité n'a dépassé le milligramme par kilogramme qu'une seule fois, pour laquelle le traitement a fini moins de huit jours avant l'accouchement.

Dans le sang du cordon, nous n'avons presque jamais pu déceler de bismuth dans la prise d'essai de l'ordre de vingt grammes de ce sang qui nous a été fourni. Une seule fois, nous avons pu le déceler de façon certaine et nous n'en avons décelé que 0 mg. 330 par kilogramme, la mère ayant reçu trois séries de dix et une série de quatre injections de muthanol, lui apportant en tout 6 g. 59 de bismuth, ce traitement ayant été commencé 210 jours avant l'accouchement et ayant été terminé huit jours avant.

L'observation 132 nous a permis de montrer indubitablement le passage du bismuth dans le fœtus. La mère avait été traitée par dix injections de muthanol entre le troisième et le huitième mois, en même temps qu'elle subissait un traitement à l'acétylarsan. Nous n'avons là pas pu déceler de bismuth dans le placenta, mais nous l'avons décelé en quantité appréciable dans le liquide amniotique, dans le foie et dans l'intestin du fœtus.

RESUME ET CONCLUSIONS

Dans le but d'étudier le passage des médicaments antisypilitiques à travers le placenta dans les conditions *normales* du traitement antisypilitique des femmes enceintes, nous avons dosé ces médicaments dans les placentas et dans les sangs du cordon prélevés au cours d'accouchements dans les Cliniques des Hôpitaux de Montpellier.

Ce travail a été précédé d'une vérification de nos méthodes de dosage, ce qui nous a amené à perfectionner quelque peu ces dites méthodes.

Pour le dosage de l'arsenic, nous avons utilisé la méthode de CRIBIER dont nous avons augmenté la sensibilité par plusieurs perfectionnements. Nous avons ainsi réussi à doser des quantités d'arsenic de l'ordre du 1/10 γ . Nous avons ainsi pu doser l'arsenic normal dans 20 cm³ de sang et dans 50 grammes de placenta.

Nous avons alors dosé l'arsenic dans les placentas et sangs du cordon dans le cas où les mères ont été traitées à l'acétylarsan ou au rhodarsan. Nous avons observé que l'arsenic passe à travers le placenta. Il nous a paru que ce passage ne se produit qu'au-dessus d'un certain seuil du taux en arsenic et nous avons observé que le fœtus conserve dans son sang des quantités appréciables d'arsenic (pourtant inférieures à 0 mg. 2 par litre) qui subsistent longtemps après la fin du traitement. Il semble donc que l'arsenic ne puisse pas passer ou tout au moins ne passe que très lentement du fœtus à la mère. Il est probable que cet arsenic a subi des modifications qui le rendent moins diffusible que les arsenicaux organiques (type acétylarsan).

En ce qui concerne le bismuth, nous avons utilisé le procédé de GIRARD et FOURNEAU dans lequel le bismuth est transformé en iodobismuthate de quinine que l'on fait passer dans la cyclohexanone en vue du dosage colorimétrique. Pour nous débarrasser de l'action perturbatrice du fer, nous avons précipité préalablement le bismuth dans le liquide de destruction sous forme de sulfure entraîné par un précipité de sulfure de mercure. Une volatilisation à 400° a ensuite chassé le mercure ainsi précipité.

Nos observations ont montré que le bismuth se fixe sur le placenta, mais qu'il passe à travers cette barrière. Toutefois, notre méthode analytique, bien que la plus sensible de toutes celles que l'on connaisse, ne nous a pas permis de mettre en évidence le bismuth dans le sang du cordon, dans tous les cas.

Les essais que nous avons faits en vue de rechercher le mercure dans le placenta et le sang du cordon après un traitement mercuriel de la mère, ne nous ont pas donné de résultats, les méthodes toxicologiques de la recherche de ce métal n'ayant pas la sensibilité nécessaire à la recherche de traces aussi faibles de mercure. De longues recherches ont été consacrées à ce problème, mais comme elles n'ont pas été couronnées de succès, elles n'ont pas été relatées ici.

En ma qualité de Censeur de tour
j'ai lu la thèse ayant pour titre :

« Dosage des médicaments antisyphi-
litiques dans les placentas et les sangs
du cordon. »

par M. André TURPIN

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression.

Montpellier, le 17 décembre 1946.

Le Professeur,

P. JAULMES

VU :

Montpellier, le 18 décembre 1946.

Le Doyen,

E. CANALS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Montpellier, le 18 décembre 1946.

Le Recteur,

Jean SARRAILH.

